

## **ROL DE LOS CITOCROMOS P450 (CLAN CYP4) DEL INTEGUMENTO DE *Triatoma infestans* EN LA RESISTENCIA A DELTAMETRINA**

**Dulbecco Andrea Belén**

**Juárez M. Patricia (Dir.), Girotti Juan R. (Codir.)**

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.

[andreadulbecco@gmail.com](mailto:andreadulbecco@gmail.com)

**PALABRAS CLAVE:** *Triatoma infestans*, Resistencia a insecticidas, Citocromo P450.

*Triatoma infestans* es el principal vector de la enfermedad de Chagas en el Cono Sur de Sudamérica. Su control se basa en el rociado con insecticidas piretroides (principalmente deltametrina); sin embargo, desde hace varios años se vienen detectando fallas de control debido al desarrollo de poblaciones resistentes. Dentro de los mecanismos más relevantes en el fenómeno de resistencia se destacan: una mayor capacidad de metabolizar el insecticida debido a un aumento en la expresión de genes relacionados con detoxificación (resistencia metabólica), mutaciones que alteran el sitio de acción (resistencia kdr), y un engrosamiento cuticular que provoca una disminución en la penetración del insecticida (factor cuticular). En nuestro laboratorio se ha demostrado por primera vez en insecto que existen diferencias significativas en la cantidad de hidrocarburos cuticulares en especímenes *T. infestans* resistentes a piretroides, junto con un grosor aumentado de la cutícula. Estas características se correlacionan con una penetración reducida del insecticida.

Aunque es bien sabido que los procesos de detoxificación de xenobióticos ocurren principalmente en el cuerpo graso de los insectos, los insecticidas de contacto encuentran en el integumento (el tejido más externo de los insectos) la primera barrera y es en este tejido donde se produce la primera interacción. Las citocromo P450 monooxigenasas (P450) constituyen una de las mayores superfamilias de enzimas encontradas en la naturaleza, catalizando la conversión de compuestos lipofílicos (tanto endógenos como xenobióticos) en derivados más hidrofílicos. Debido a su gran abundancia, los genes P450 (CYP) se

asignan en familias y subfamilias; también se utiliza una agrupación de mayor orden denominada clan, encontrándose 4 clanes en la naturaleza. Varias subfamilias del clan 3 y clan 4 en insectos hay sufrido expansiones génicas, resultando en "blooms" de P450 linaje específicos, que han sido asociados con resistencia a insecticidas.

Como parte de mi plan de tesis, y a partir de la información disponible del transcriptoma de integumento de *T. infestans*, hemos comenzado con el estudio de los genes CYP de integumento. Hemos detectamos que la detoxificación de deltametrina comienza en el integumento de vinchucas resistentes, con potencial participación de P450 del clan 4. Dentro de los 15 genes estudiados, dos de ellos -CYP3093A11 y CYP4EM10- se encuentran constitutivamente sobreexpresados en el integumento (pero no en otros tejidos) de vinchucas resistentes. Cuando estos dos genes fueron silenciados específicamente mediante ARN de interferencia, otro gen del clan CYP4 resultó sobreexpresado en el integumento, posiblemente como respuesta al silenciamiento de los genes antes mencionados. Estos resultados permitieron tener una primera aproximación para comenzar a estudiar el rol de los citocromos P450 del integumento de *T. infestans* en la detoxificación de deltametrina. Esta información contribuye a la hipótesis de que hay múltiples mecanismos participando en el complejo fenómeno de resistencia a insecticidas. En este sentido, se demuestra que el tejido epidérmico contribuye no solo con la resistencia cuticular, sino también con una activa participación en la resistencia metabólica.

## **CARACTERIZACIÓN DEL ARN LARGO NO CODIFICANTE LINC885 EN LA PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE MAMA**

**Gurruchaga Agustina**

**Abba Martin Carlos (Dir.), Lacunza Ezequiel (Codir.)**

Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (CINIBA), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

[agustinaqurruchaga@hotmail.com](mailto:agustinaqurruchaga@hotmail.com)

**PALABRAS CLAVE:** ARNlnc, Progresión Cáncer de mama, RNAseq.

El Carcinoma Ductal In Situ (CDIS) es una lesión neoplásica local no invasiva y precursora de los Carcinomas Ductales Infiltrantes (CDI). Las pacientes con CDIS poseen mayor riesgo de desarrollar CDI que las mujeres sin antecedentes en este tipo de lesión. Se estima que un tercio de los CDIS tendrían el potencial de progresar a CDI si no son tratados debidamente y actualmente se desconoce la razón por la cual sólo algunos CDIS progresan al estadio invasivo.

Los ARN largos no codificantes (ARNlnc) son transcritos con más de 200 nucleótidos y sin ORF. Recientemente han sido descritos centenares de ARNlnc en el genoma humano algunos de ellos importantes para el desarrollo embrionario, la organogénesis y múltiples procesos celulares normales, así como también se vieron involucrados en el desarrollo de enfermedades humanas, por ejemplo, actuando como oncogenes. Identificamos mediante RNA-Seq un grupo de 193 ARNlnc

diferencialmente expresados entre tejidos mamarios normales y CDIS de alto grado (CDIS-AG) ( $p < 0.01$ ,  $FDR < 0.01$ ). El 87% de estos ARNlnc (168 de 193) se encontraron sobreexpresados en los CDIS-AG. Un análisis de enriquecimiento funcional permitió determinar que dichos ARNlnc estarían involucrados en la regulación del ciclo celular y las vías de señalización de TP53, ERBB y MAPKs. Este trabajo se centra en el ARNlnc intergénico LINC885, su efecto sobre la proliferación celular, las vías de señalización en las que estaría involucrado y su potencialidad como biomarcador de progresión del cáncer de mama. **Objetivos:** Determinar el rol del LINC885 sobre la proliferación celular en modelos mamarios humanos tipo normal y tumorales invasivo y no invasivo e identificar las vías de señalización en que podría estar involucrado.

**Materiales y métodos:** Se evaluó el efecto de la sobreexpresión del LINC885 sobre la proliferación celular, en las líneas celulares MCF10 (tipo normal) y DCIS.COM (tumoral no invasiva) mediante el ensayo de formación de colonias. Se analizó el efecto del silenciamiento de dicho ARNlnc sobre la proliferación y migración celular, en las líneas celulares MCF7 y T47D (tumorales invasivas) mediante el ensayo de cierre de la herida. Se determinó la localización subcelular del transcripto mediante ensayos de fraccionamiento en las líneas celulares MCF7, T47D y DCIS.COM. Por otro lado, se realizaron análisis transcriptómicos (RNA-Seq) para identificar las vías de señalización moduladas por LINC885 en las líneas celulares MCF10 y DCIS.COM transfectadas establemente para la sobreexpresión del LINC885. Asimismo se evaluó el potencial del

LINC885 como biomarcador de progresión tumoral mediante el análisis de datos de muestras de pacientes con carcinomas mamarios invasivos, obtenidos del BRCA-TCGA Project.

**Resultados:** Se identificó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) del número de colonias en las líneas celulares MCF10 y DCIS.COM con sobreexpresión estable del LINC885, respecto de las células que no sobreexpresan a LINC885. Asimismo, se detectó una reducción significativa de la velocidad de cierre de la herida en las células sobre las cuales se silenció la expresión de LINC885 ( $p < 0.05$ ), respecto de las células control. El análisis de enriquecimiento funcional de los transcriptos desregulados en respuesta a la sobreexpresión del LINC885 reveló bioprocesos relacionados con las vías de señalización de TP53, EGFR y FOXM1, fuertemente asociadas a la proliferación celular. Además, el análisis de los datos del BRCA-TCGA mostró una asociación entre la expresión elevada de LINC885 y una menor supervivencia global de pacientes con carcinomas mamarios invasivos ( $p = 0.02$ ).

**Conclusiones:** La expresión del ARNlnc LINC885 tiene un claro efecto fenotípico sobre la capacidad de proliferación y migración celular. Los datos de RNA-Seq y de supervivencia global permiten proponer al LINC885 como un nuevo oncogén asociado a la progresión temprana del cáncer de mama y un biomarcador de mal pronóstico de evolución de la enfermedad.

## PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN ULTRAESTRUCTURAL DE MICROESCLEROCIOS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE INSECTOS PLAGA EN CULTIVOS Y GRANOS ALMACENADOS

Huarte Bonnet Carla

Pedrini Nicolás (Dir.)

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP-CONICET.

[carlahuartebonnet@gmail.com](mailto:carlahuartebonnet@gmail.com)

**PALABRAS CLAVE:** *Beauveria bassiana*, Microesclerocios, Melaninas.

Los hongos entomopatógenos son hongos filamentosos, enemigos naturales de varias especies de insectos, por lo que poseen un gran potencial como agentes de control biológico de insectos plaga y vectores de enfermedades. Los más usados en estrategias de control microbiano son *Beauveria bassiana*, y *Metarhizium anisopliae*. Para la utilización de hongos entomopatógenos en estrategias de control biológico es crucial que los mismos puedan ser producidos masivamente de manera económica y almacenarse correctamente manteniendo su capacidad infectiva en el ambiente donde fueran a utilizarse. Los propágulos más estudiados y utilizados en productos comerciales son los conidios; sin embargo, en los últimos años se han desarrollado formulaciones basadas en blastosporos y algunas más novedosas basadas en microesclerocios. Los microesclerocios (ME) son estructuras fúngicas esclerociales de 200-600  $\mu\text{m}$  de diámetro, formados por agregados de hifas melanizadas que representan los propágulos de resistencia de ciertos hongos en el medio ambiente. Son producidos por una amplia

variedad de hongos filamentosos, en general hongos patógenos de plantas u hongos que interaccionan con sus raíces. Durante la producción de ME en hongos filamentosos se han observado altos niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) que actuarían como mecanismos de señalización para la diferenciación celular de conidios a ME. Las melaninas son macromoléculas oscuras compuestas por varios tipos de monómeros fenólicos o indólicos, usualmente clasificadas en melaninas tipo DHN, DOPA o piomelaninas. Están involucradas en distintos procesos fúngicos entre los que se destacan la protección a estrés ambiental como radiación UV y desecación. También pueden actuar como capturadores de radicales, pudiendo ser un mecanismo alternativo de detoxificación de ROS en las células de ME. Estudios recientes en nuestro laboratorio permitieron la obtención por primera vez de ME en *Beauveria bassiana*, único propágulo pigmentado en esta especie, presentando características similares a los de *M. robertsii* como la coloración, tolerancia a la desecación, capacidad de germinar y producir conidios viables en